

УДК (57.017.7+577.122)582.263

Галина Вінярська, Оксана Боднар

Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка, Україна

**ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ КОМПЛЕКСІВ – МЕТАЛ-СЕЛЕН-ЛІПІДНИХ СУБСТАНЦІЙ**

Halina Viniarska, Oksana Bodnar

**RECEIVING OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEXES – METAL-SE-LIPID SUBSTANCES**

Отримання біологічно активних метал-селен-ліпідних комплексів (Боднар О.І. и др., 2014), потенційної сировини для фармацевтичних та косметичних засобів метал-селен-ліпідної природи, які володіють кращим біологічним ефектом і є природнішими для організму людини за структурою та засвоюваністю, ніж традиційно використовувані нині в практиці селенові і металвмісні біодобавки, що є фізичними сумішами відповідних неорганічних сполук, на основі культивування одноклітинних водоростей є перспективним напрямком аквабіотехнологій.

Матеріалом дослідження була водорість *Chlorella vulgaris* Beij., яку культивували згідно загальноприйнятих гідробіологічних методик (Романенко В.Д., 2006). В експериментальних умовах в культуральне середовище водоростей додавали водний розчин селеніту натрію з розрахунку  $10,0 \text{ мг Se}^{4+}/\text{дм}^3$  та водні розчини солей металів з розрахунку на кількість іонів:  $\text{Zn}^{2+} - 5,0 \text{ мг}/\text{дм}^3$ ,  $\text{Mn}^{2+} - 0,25 \text{ мг}/\text{дм}^3$ ,  $\text{Cu}^{2+} - 0,002 \text{ мг}/\text{дм}^3$ ,  $\text{Fe}^{3+} - 0,008 \text{ мг}/\text{дм}^3$ ,  $\text{Co}^{2+} - 0,05 \text{ мг}/\text{дм}^3$ . Відбір зразків біомаси водоростей для визначення особливостей процесу накопичення селену і металів за сумісної дії із селеном здійснювали на 7-му добу експерименту. Як контроль використовували культури водоростей без додавання у середовище сполук селену і металів. Вміст селену у клітинах хлорели визначали за допомогою спектрофотометричного методу з о'-фенілендіаміном (Дедков Ю.М., 2002), а металів – атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі Selmi C-115 M1. (Атомно-абсорбционная спектроскопия, 1983). Кількість ліпідів встановлювали за методом Фолча. Розділення ліпідів на окремі фракції здійснювали методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії (Кейтс М., 1975; Методы..., 1982).

Проведені нами дослідження показали, що при внесенні селеніту натрію вміст  $\text{Se}^{4+}$  в клітинах *Ch. vulgaris* збільшувався на 15,7% щодо контролю. Однак, при одночасному внесенні в культуральне середовище  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Co}^{2+}$  спостерігали зменшення вмісту селену на 8,7% щодо контрольних показників. Подібні результати були отримані також при внесенні  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  – за їх сумісної дії вміст селену зменшувався на 3,8% стосовно контролю. Однак, збільшення вмісту селену спостерігали при одночасному внесенні в середовище культивування  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Cu}^{2+}$  та  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$ . Так, за дії  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Zn}^{2+}$  вміст селену збільшувався на 62,9%, а за дії  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Cu}^{2+}$  – на 25% щодо контролю, тоді як за дії  $\text{Se}^{4+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  – збільшувався лише на 4%. Культивування хлорели у середовищі з селенітом натрію та іонами металів  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Co}^{2+}$  вміст останніх в біомасі водоростей значно збільшувався. Так, вміст  $\text{Co}^{2+}$  щодо контрольних показників зростав на 18,9%,  $\text{Mn}^{2+}$  – на 168,3%,  $\text{Zn}^{2+}$  – на 1498,7% та  $\text{Fe}^{3+}$  – на 6,1%. Однак, при одночасному внесенні в культуральне середовище селеніту і  $\text{Cu}^{2+}$  спостерігали зменшення вмісту міді на 5,4% порівняно із контролем.

Відомо, що мікрowodорості здатні асимільовані з води розчинені неорганічні сполуки нагромаджувати в клітинах у складі вільних амінокислот, білків, ферментів, полісахаридів, каротиноїдних пігментів і ліпідів (Золотарьова О.К., 2008). Тому, було актуальним визначення особливостей включення досліджуваних мікроелементів до складу органічних макромолекул – ліпідів.

Результати дослідження показали, що при внесенні селеніту натрію вміст  $\text{Se}^{4+}$  в ліпідах клітин *Ch. vulgaris* збільшувався щодо контрольних значень на 53,8%, а за спільної дії з металами  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  збільшувався відповідно на 69,5%; 174,1%; 249,9%; 131,3% і 126,5%. Тоді, як вміст марганцю за спільної дії з селенітом зростав порівняно із контролем на 61,5%,  $\text{Cu}^{2+}$  – на 77,1%,  $\text{Zn}^{2+}$  – на 892,6% та  $\text{Fe}^{3+}$  – лише на 6,5%, однак вміст  $\text{Co}^{2+}$  зменшувався на 8,5% щодо контролю. Із отриманих результатів бачимо, що у ліпідах накопичувалась значна кількість селену і досліджуваних металів, тому доцільним було дослідити особливості включення досліджуваних мікроелементів до складу ліпідів різних класів. Результати дослідження показали, що протягом усього періоду інкубації водоростей з селенітом та іонами металів (7 діб) спостерігалось значне накопичення селену в ліпідах різних класів. Так, при внесенні селеніту вміст селену у фосфоліпідах (ФЛ) збільшувався в 1,4 рази, а в комплексі з металами –  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$ , збільшувався щодо контролю в 3; 2,6; 4; 1,6 і 1,5 рази відповідно. Диацилгліцероли (ДАГ) у порівнянні з фосфоліпідами накопичували незначну кількість селену за дії селеніту (його вміст збільшувався лише на 12%) і селеніту з  $\text{Zn}^{2+}$  (на 63,4%), тоді як за спільного впливу селеніту з  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  були отримані значно вищі результати – мало місце збільшення вмісту селену відповідно у 3,1; 3,6; 3,3 і 1,4 рази щодо контролю. Вміст мікроелементу у неетерифікованих жирних кислотах (НЕЖК) значно збільшувався за спільної дії селеніту з усіма досліджуваними металами. Так, за дії селеніту кількість  $\text{Se}^{4+}$  збільшилася в 1,7 рази; за дії  $\text{Co}^{2+}$  – в 9,3 рази;  $\text{Mn}^{2+}$  – в 13 рази;  $\text{Cu}^{2+}$  – в 19,6 рази;  $\text{Zn}^{2+}$  – в 2 рази і  $\text{Fe}^{3+}$  – в 11,8 рази. У лізофосфоліпідах (ЛФЛ) за дії селеніту вміст селену збільшився на 72%, а за дії селеніту з металами –  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  – збільшувався відповідно на 10,5%, 157,3%, 85,5%, 81,1% і 258,6% щодо контролю. Стосовно триацилгліцеролів (ТАГ), то у їх складі було виявлено дещо меншу кількість селену. Так, за дії селеніту окремо і спільно з  $\text{Co}^{2+}$  вміст селену збільшувався на 41,6%, тоді як за дії селеніту з  $\text{Mn}^{2+}$  – на 169%, селеніту з  $\text{Cu}^{2+}$  – на 118%, селеніту з  $\text{Zn}^{2+}$  – на 80,2% і селеніту з  $\text{Fe}^{3+}$  – на 224,2% щодо контролю. Щодо металів, то їх вміст у ліпідах різних класів за спільної дії з селенітом натрію збільшувався у всіх варіантах. Так, вміст  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  у ФЛ зростав відповідно на 32,5%, 219,8%, 56,9%, 44,6% і 45,3%. ДАГ теж накопичували значну кількість мікроелементів порівняно з контролем. Так, вміст  $\text{Co}^{2+}$  збільшувався на 45,9%,  $\text{Mn}^{2+}$  – на 169%,  $\text{Cu}^{2+}$  – на 79%,  $\text{Zn}^{2+}$  – на 40% та  $\text{Fe}^{3+}$  – на 60,9%. Тоді, як у НЕЖК кількість  $\text{Co}^{2+}$  зростала на 51,3%,  $\text{Mn}^{2+}$  – на 166,3%,  $\text{Zn}^{2+}$  – на 36%,  $\text{Fe}^{3+}$  – на 71% і  $\text{Cu}^{2+}$  – лише на 11% щодо контрольних значень. У ЛФЛ вміст  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  збільшувався відповідно на 152,6%, 70,4%, 43,1%, 25,1% і 56,7% щодо контролю. Вміст металів у ТАГ порівняно з контролем також збільшувався:  $\text{Co}^{2+}$  на 138,9%,  $\text{Mn}^{2+}$  на 77,6%,  $\text{Cu}^{2+}$  на 52,1%,  $\text{Zn}^{2+}$  на 59,3% і  $\text{Fe}^{3+}$  на 110,1%.

Отримані результати зумовлені, головним чином, високою адсорбційною ємністю клітинних оболонок водоростей щодо додаткового впливу металів, значною асиміляційною поверхнею та особливостями механізмів регуляції обміну мікроелементів одноклітинними водоростями (Amos Richmond, 2013). Однак, це може бути пов'язано і з тим, що іони металів у використаних концентраціях могли спричинити певні порушення фізіологічних функцій і структурні зміни у клітинах, в тому числі функціональні порушення клітинних оболонок, що, в свою чергу, є причиною неконтрольованого проникнення металів усередину клітин *Ch. vulgaris* (Сим Э., 1985; Metzler D.E., 2003). Таким чином, результати досліджень показали, що вміст селену / металів в ліпідах різних класів значно збільшується при спільному впливі селеніту та іонів металів, ніж при дії селеніту / металів окремо. Це може бути пов'язано з біологічною роллю досліджуваних металів, а також властивостями ліпідів. Регулювання утворення метал-селен-ліпідного комплексу селенітом натрію при спільному впливі з  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Co}^{2+}$  може бути використано для розробки технологій одержання метал-селен-ліпідних біологічно активних препаратів.